# 基于硫氧还蛋白还原酶 1 探究堆心菊灵对人前列腺癌细胞中活性氧产生的影响

潘聪桃[1]，张晓燕[2]，廖爱玲[2]，潘海飞[3]，周超峰[2]，杨　宇[2*]

1. 温州市中心医院 麻醉手术科，浙江 温州　325000
2. 温州医科大学附属第一医院 泌尿外科，浙江 温州　325000
3. 温州医科大学附属第一医院 麻醉手术室，浙江 温州　325000

**摘　要：目的**　探究堆心菊灵在人前列腺癌细胞中的抗癌作用及其潜在的作用机制。**方法**　人前列腺癌 DU145 和 PC-3 细胞分别以不同浓度的堆心菊灵处理 48 h，CCK-8 法检测细胞存活率；qRT-PCR 法检测硫氧还蛋白还原酶 1（thioredoxin reductase 1，*TrxR1*）mRNA 表达情况。从人类蛋白免疫组化表达数据库中检测前列腺癌组织和正常组织中 TrxR1 蛋白表达情况；经堆心菊灵或活性氧（reactive oxygen species，ROS）抑制剂处理后，采用 DCFH-DA 染色法检测 ROS 的产生；敲除或过表达 *TrxR1*，经堆心菊灵处理后，检测 2 种细胞中 ROS 水平。**结果**　堆心菊灵显著抑制前列腺癌细胞存活率和 *TrxR1* mRNA 表达水平（$P$＜0.05、0.001），呈剂量相关性。与正常组织相比，TrxR1 在前列腺癌组织中高表达。堆心菊灵显著诱导了前列腺癌细胞中 ROS 的产生，敲除 *TrxR1* 显著提高了前列腺癌细胞中 ROS 水平，过表达 TrxR1 抑制了前列腺癌细胞中 ROS 产生；而堆心菊灵可改善 TrxR1 过表达对 ROS 产生的抑制作用。**结论**　堆心菊灵可以通过靶向人前列腺癌细胞中的 TrxR1 来促进 ROS 的产生，进而发挥抗前列腺癌的作用。

**关键词：**堆心菊灵；硫氧还蛋白还原酶 1；活性氧；前列腺癌细胞；抗癌

**中图分类号：**R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2022)07 - 2078 - 07

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.07.017

# Effect of helenalin on reactive oxygen species in human prostate cancer cells based on thioredoxin reductase 1

PAN Cong-tao[1], ZHANG Xiao-yan[2], LIAO Ai-ling[2], PAN Hai-fei[3], ZHOU Chao-feng[2], YANG Yu[2]

1. Department of Anesthesia Surgery, Wenzhou Central Hospital, Wenzhou 325000, China
2. Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China
3. Department of Anesthesia Surgery, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

**Abstract: Objective**　To explore the anticancer effect and potential mechanism of helenalin in human prostate cancer cells. **Methods** Human prostate cancer DU145 and PC-3 cells were treated with different concentrations of helenalin for 48 h, and cell viability was detected by CCK-8 method, thioredoxin reductase 1 (*TrxR1*) mRNA expression was detected by qRT-PCR method. The protein expression of TrxR1 in prostate cancer tissues and normal tissues was detected by human protein immunohistochemical expression database; After treated with helenalin or reactive oxygen species (ROS) inhibitors, the production of ROS was detected by DCFH-DA staining; Knockout or overexpression of TrxR1, ROS levels in two kinds of cells after treated with helenalin were detected. **Results** Helenalin significantly inhibited the survival rate of prostate cancer cells and *TrxR1* mRNA expression ($P$ < 0.05, 0.001), with a concentration-dependent manner. Compared with normal tissues, TrxR1 is highly expressed in prostate cancer tissues. Helenalin significantly induced ROS production in prostate cancer cells, knockdown of *TrxR1* significantly increased ROS level in prostate cancer cells, and overexpression of TrxR1 inhibited the production of ROS in prostate cancer cells. **Conclusion**　Helenalin can promote the production of ROS by targeting TrxR1 in human prostate cancer cells, thereby exerting an anti-prostate cancer effect.

**Key words:** helenalin; thioredoxin reductase 1; reactive oxygen species; prostate cancer cells; anticancer

**收稿日期：**2021-12-17

**基金项目：**温州市科技计划经费自筹项目（Y20180481）

**作者简介：**潘聪桃，主管护师，本科，研究方向为泌尿系统肿瘤护理。E-mail: 435569205@qq.com

***通信作者：**杨　宇，主治医师，硕士研究生，研究方向为泌尿系统肿瘤。E-mail: 83292199@qq.com

前列腺癌是中国男性中最常见的恶性肿瘤之一，也是癌症相关死亡的主要原因之一[1]。雄激素剥夺疗法是前列腺癌的首选治疗方法[2]。然而，一部分前列腺癌患者对该治疗不敏感，限制了该疗法在临床上的应用。因此，迫切需要探索用于治疗该疾病的新型药物。

氧化应激参与调节肿瘤细胞的恶性生物学行为。尽管从正常的生理角度来看，维持细胞功能所需的活性氧（reactive oxygen species，ROS）水平是必要的，但过量的 ROS 可能破坏促氧化剂和抗氧化剂的平衡，从而导致细胞损伤或死亡[3]。氧化应激水平的提高已成为消除肿瘤细胞的一种有前景的治疗策略。与正常细胞相比，前列腺癌细胞中 ROS 和氧化应激水平增加[4]。研究报道，促进 ROS 的产生可以显著地杀伤前列腺癌细胞[5]。硫氧还蛋白（thioredoxin，Trx）系统包含硫氧还蛋白受体（thioredoxin receptor，TrxR）、Trx 和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（nicotinamide adenine dinucleotide phosphate，NADPH）。研究表明，抑制 TrxR1 的活性会破坏细胞的氧化还原平衡，从而导致 ROS 的升高[6]。

堆心菊灵是愈创木酚内酯的天然产物。近年来研究发现堆心菊灵具有抗炎[7]、抗氧化应激[8]和抗肿瘤[9]等多种药理活性。然而，堆心菊灵是否能够治疗前列腺癌尚不清楚。此外，堆心菊灵抗癌的作用机制尚未完全阐明。本研究旨在探索堆心菊灵对前列腺癌细胞的影响，并探讨堆心菊灵是否可以通过靶向 TrxR1 促进前列腺癌细胞中 ROS 产生。

## 1 材料

### 1.1 细胞

人前列腺癌细胞系 DU145 和 PC-3 购自美国 ATCC。

### 1.2 药品与试剂

堆心菊灵（批号 236784P）购自孟成科技（上海）有限公司；RPMI 1640 培养基（批号 25123404）购自武汉普诺赛公司；胎牛血清（批号 2085124A）购自美国 Hyclone 公司；F-12K 培养基（批号 2173969RP）购自美国 Gibco 公司；PBS 溶液（批号 1036741）购自美国 Life Carlsbad 公司；CCK-8 检测试剂盒（批号 2148751）购自上海东仁化学公司；MiniBEST 通用 RNA 提取试剂盒（批号 2173969RP）购自日本 Takara 公司；Lipofectamine 2000（批号 2036945B）购自美国 Invitrogen 公司；ROS 检测试剂盒（批号 20210514）购自北京索莱宝科技有限公司；多聚甲醛（批号 20210311）购自上海生工生物工程公司；山羊血清（批号 04569）购自北京 Beyotime 公司；Triton X-100（批号 20210412）、DAPI 染液（批号 20210311）购自美国 Sigma 公司。

### 1.3 仪器

荧光显微镜（日本 Olympus 公司）；全功能微孔板检测仪（美国 PerkinElmer 公司）；qRT-PCR 仪（美国 ABI 公司）；细胞爬片（无锡 NEST 公司）。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养

DU145 细胞用含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基，PC-3 细胞用含 10%胎牛血清的 F-12K 培养基，培养基中均含 100 U/mL 青霉素和链霉素，于 37 ℃、5% $CO_2$ 饱和湿度的培养箱中培养。

### 2.2 TrxR1 过表达载体的构建

利用 TrxR1 特异性引物将目的基因编码区序列（CDS）克隆，包括 PCR 扩增、产物纯化、限制性内切酶酶切，利用 T4 DNA 连接酶进行连接；转化大肠杆菌 DH5a，进行菌落 PCR。选取阳性样品进行摇菌测序，比对正确的菌落保存备用，并提取质粒。

### 2.3 细胞存活率检测

通过 CCK-8 试剂盒检测前列腺癌细胞的存活率。DU145 和 PC-3 细胞经 PBS 溶液冲洗后，用胰蛋白酶消化 2 min，制成细胞悬液，将细胞以 8000 个/孔接种到 96 孔板中，细胞培养至贴壁后，向细胞中加入不同浓度的堆心菊灵（0、1、2、4、8、12、16、20 μmol/L），培养 48 h；加入 CCK-8 溶液，孵育 3 h，加入终止溶液，采用全功能微孔板检测仪测定 450 nm 处的吸光度（$A$）值，计算细胞存活率。

细胞存活率＝($A_{实验}$－$A_{空白}$)/($A_{对照}$－$A_{空白}$)

### 2.4 转染

DU145 和 PC-3 细胞以 $1\times10^4$/孔接种到 6 孔板中，培养 24 h 后，用 Liopfectamine RNAiMAX 试剂将 20 μmol/L si-*TrxR1* 及无关序列（si-NC）转染到细胞中。siRNA 序列：si-*TrxR1*#1：5’-GGGGAAGACCCTGGTTGTT-3’；si-*TrxR1*#2：5’-CCACTGTATTTACTCCTTT-3’。此外，将编码 TrxR1 蛋白的重组质粒载体通过 Lipofectamine 2000 分别转染到 DU145 和 PC-3 细胞中。24 h 后，采用 qRT-PCR 评估转染效果。

### 2.5 qRT-PCR 检测

使用 RNA 提取试剂盒从 DU145 和 PC-3 细胞

中提取总 RNA。用紫外分光光度计测量 $A_{260}/A_{280}$ 值。将总 RNA 逆转录成 cDNA：25 ℃、5 min，42 ℃、30 min，85 ℃、5 min。通过 qRT-PCR 检测目标基因的表达。引物序列：人 *TrxR1* 上游引物 5’-CCCTGGTTGTTGGAGCAT-3’，下游引物 5’-TCTGAGTCGGCCTGGTGT-3’；人甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，*GAPDH*）上游引物 5’-TCAAGAAGGTGGTGAAGCAGG-3’，下游引物 5’-TCAAAGGTGGAGGAGTGGGT-3’。

### 2.6　ROS 检测

采用 ROS 检测试剂盒检测 DU145 和 PC-3 细胞中 ROS 水平。取处于对数生长期的细胞，以 1×$10^4$/孔接种到 24 孔板中，细胞贴壁生长后，用 ROS 抑制剂 *N*-乙酰半胱氨酸（NAC，10 mmol/L）预处理 1 h，然后加入堆心菊灵处理 48 h。用无血清培养基按 1∶1000 稀释 DCFH-DA，使其终浓度为 10 μmol/L，将细胞与 300 μL DCFH-DA 于 37 ℃孵育 30 min；于 PBS 溶液中浸泡后，用 4%多聚甲醛固定 15 min；将载玻片用 0.5% Triton X-100 于室温浸透 20 min，滴加山羊血清，室温封闭 30 min；加入 DAPI 染液，避光孵育 5 min，用载有抗荧光淬灭剂的固定溶液固定载玻片，于荧光显微镜下观察并拍照。同法检测敲除或过表达 TrxR1 后细胞内的 ROS 水平。

### 2.7　统计分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，通过 GraphPad Prism 7 软件进行统计分析，采用 *t* 检验（Student’s *t*-test）和单因素方差分析（One-way ANOVA）进行分析。

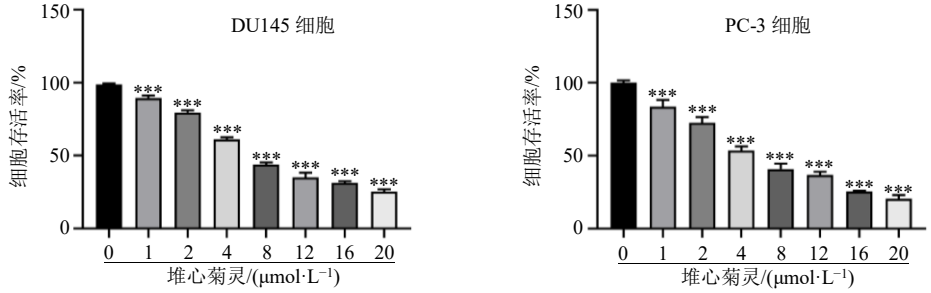
## 3　结果

### 3.1　堆心菊灵抑制人前列腺癌细胞的存活率

用不同浓度的堆心菊灵处理 DU145 和 PC-3 2 种前列腺癌细胞，如图 1 所示，随着堆心菊灵浓度的增加，DU145 和 PC-3 细胞的存活率逐渐降低。本研究选择 8 μmol/L 作为堆心菊灵处理 DU145 细胞的最佳浓度［半数抑制浓度（half inhibitory concentration，$IC_{50}$）＝6.12 μmol/L］，4 μmol/L 作为堆心菊灵处理 PC-3 细胞的最佳浓度（$IC_{50}$＝5.32 μmol/L）。

### 3.2　TrxR1 在前列腺癌组织中高表达

从人类蛋白免疫组化表达数据库（https://www.proteinatlas.org/）中搜索了 TrxR1 在人前列腺癌组织和癌旁正常组织中的表达情况。如图 2 所示，




与堆心菊灵（0 μmol·L$^{-1}$）组比较：$^{***}P$＜0.001

$^{***}P < 0.001$ *vs* helenalin (0 μmol·L$^{-1}$) group

**图 1　堆心菊灵抑制人前列腺癌细胞的存活率（$\bar{x} \pm s$，$n$ = 3）**

**Fig. 1　Helenalin inhibits survival rate of human prostate cancer cells ($\bar{x} \pm s$, $n$ = 3)**

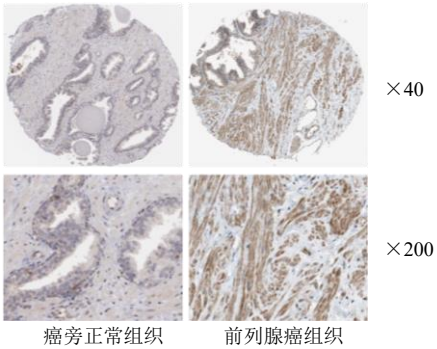


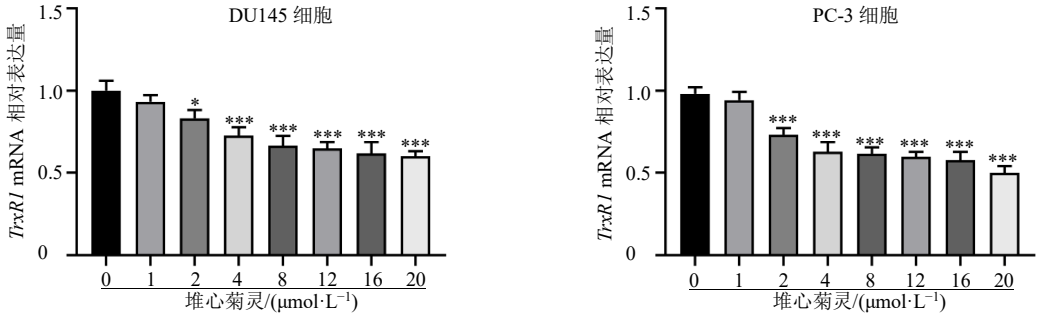

**图 2　TrxR1 在人前列腺癌和癌旁正常组织中的表达情况**

**Fig. 2　TrxR1 expression in human prostate cancer and adjacent normal tissues**

TrxR1 在人前列腺癌组织中染色较深，并且多位于细胞质和细胞膜上（棕黄色）；在细胞核（蓝色）上没有染色；而在癌旁正常组织中没有着色现象。表明与癌旁正常组织相比，TrxR1 在人前列腺癌组织中显著高表达，并且 TrxR1 主要在细胞质和细胞膜上表达。

### 3.3　堆心菊灵抑制 *TrxR1* 在人前列腺癌细胞中的表达

用不同浓度的堆心菊灵处理 DU145 和 PC-3 2 种前列腺癌细胞，采用 qRT-PCR 检测细胞中 *TrxR1* mRNA 表达水平。如图 3 所示，随着堆心菊灵浓度




与堆心菊灵（0 μmol·L$^{-1}$）组比较：$^{*}P<0.05$ $^{***}P<0.001$

$^{*}P < 0.05$ $^{***}P < 0.001$ *vs* helenalin (0 μmol·L$^{-1}$) group

**图 3 堆心菊灵抑制 *TrxR1* 在人前列腺癌细胞中的表达 ( $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)**

**Fig. 3 Helenalin inhibits *TrxR1* expression in human prostate cancer cells ( $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)**

的增加，DU145 和 PC-3 细胞中 *TrxR1* mRNA 表达水平逐渐降低。表明堆心菊灵可以抑制 *TrxR1* 在人前列腺癌细胞中的表达，且呈剂量相关性。

### 3.4 堆心菊灵促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生

进一步分析堆心菊灵是否可以调节人前列腺癌细胞中 ROS 的产生，进而诱导前列腺癌细胞的凋亡。如图 4 所示，与对照组相比，堆心菊灵能够升高 DU145 和 PC-3 细胞中 ROS 水平；2 种前列腺癌细胞经 ROS 抑制剂 NAC 预处理 1 h 可以明显减弱堆心菊灵诱导的 ROS 升高。表明堆心菊灵促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生。

### 3.5 沉默 *TrxR1* 表达促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生

为了沉默 *TrxR1* 的表达，设计了 2 个靶向 TrxR1 的 siRNAs 并分别转染到 DU145 和 PC-3 细胞中。qRT-PCR 结果（图 5-A、B）表明，2 个 siRNAs 均有效地抑制了 2 种细胞中 *TrxR1* 的表达，其中 si-*TrxR1*#1 敲除效果更佳。因此，选取 si-*TrxR1*#1 用于接下来的实验。敲除 *TrxR1* 后，通过 DCFH-DA 染色检测 DU145 和 PC-3 细胞中 ROS 的产生，如图 5-C 所示，与 si-NC 组相比，si-*TrxR*1 组 2 种前列腺癌细胞 ROS 水平明显升高。表明沉默 *TrxR1* 促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生。

### 3.6 堆心菊灵通过靶向 TrxR1 促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生

为了过表达 DU145 和 PC-3 细胞中的 TrxR1，将编码 TrxR1 蛋白的重组质粒转染到前列腺癌细胞中。qRT-PCR 结果（图 6-A、B）显示，TrxR1 在 DU145 和 PC-3 细胞中被过表达。DCFH-DA 染色结果（图 6-C）显示，TrxR1 过表达明显抑制了前列腺癌细胞中 ROS 的产生，堆心菊灵能够明显改善前列腺癌细胞中由于 TrxR1 过表达导致的 ROS 减少。

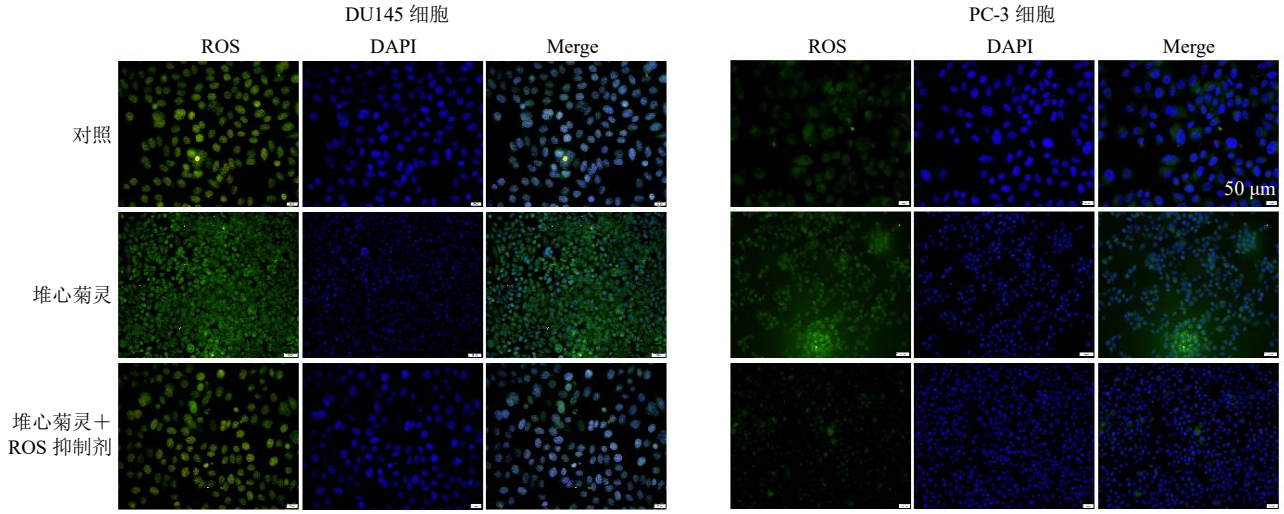
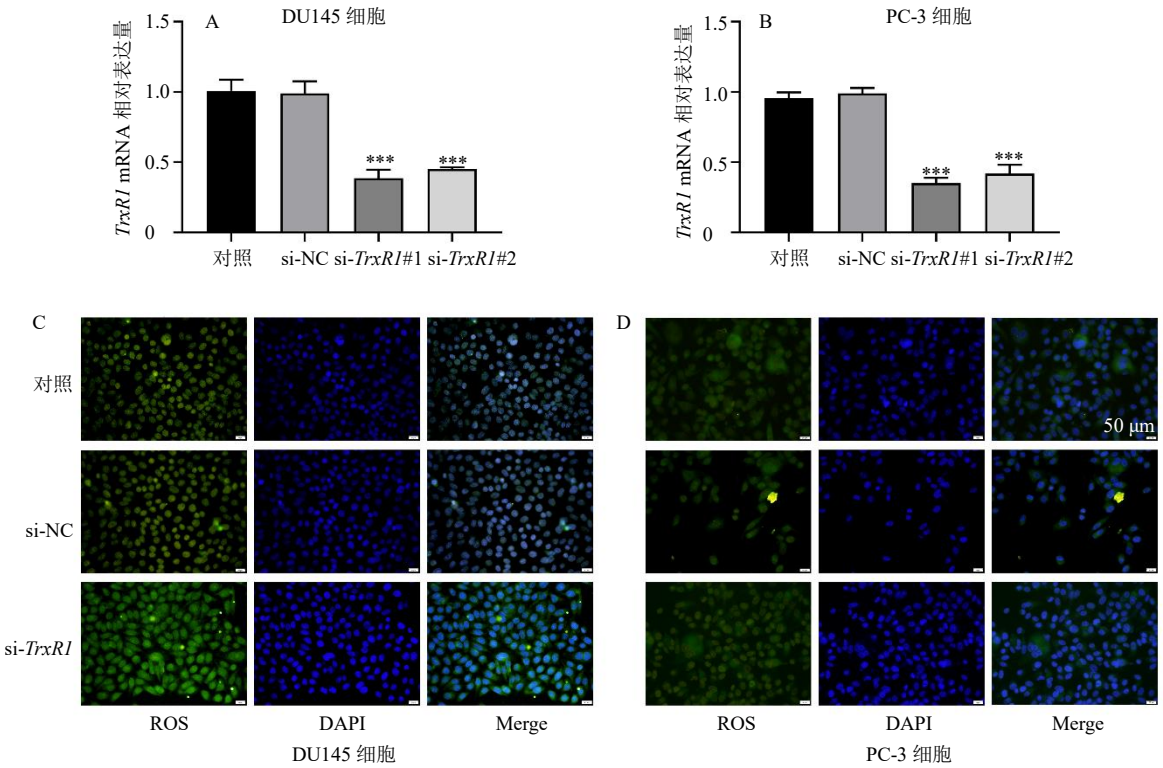



**图 4 堆心菊灵促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生**

**Fig. 4 Helenalin promotes production of ROS in human prostate cancer cells**




qRT-PCR 法检测 DU145 (A) 和 PC-3 细胞 (B) 中 siRNAs 靶向 *TrxR1* 的敲除效果　经 si-NC 或者 si-*TrxR1* 转染后，DCFH-DA 染色法检测 DU145 (C) 和 PC-3 细胞 (D) 中 ROS 的产生　与 si-NC 组比较：$^{***}P<0.001$

qRT-PCR was used to verify the knockout effect of siRNAs targeting *TrxR1* in DU145 (A) and PC-3 cells (B)　after transfection with si-NC or si-*TrxR1*, DCFH-DA staining was performed to detect the production of ROS in DU145 (C) and PC-3 cells (D)　$^{***}P < 0.001$ *vs* si-NC group

**图 5　沉默 *TrxR1* 促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）**

**Fig. 5　Silencing *TrxR1* promotes ROS production in human prostate cancer cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)**

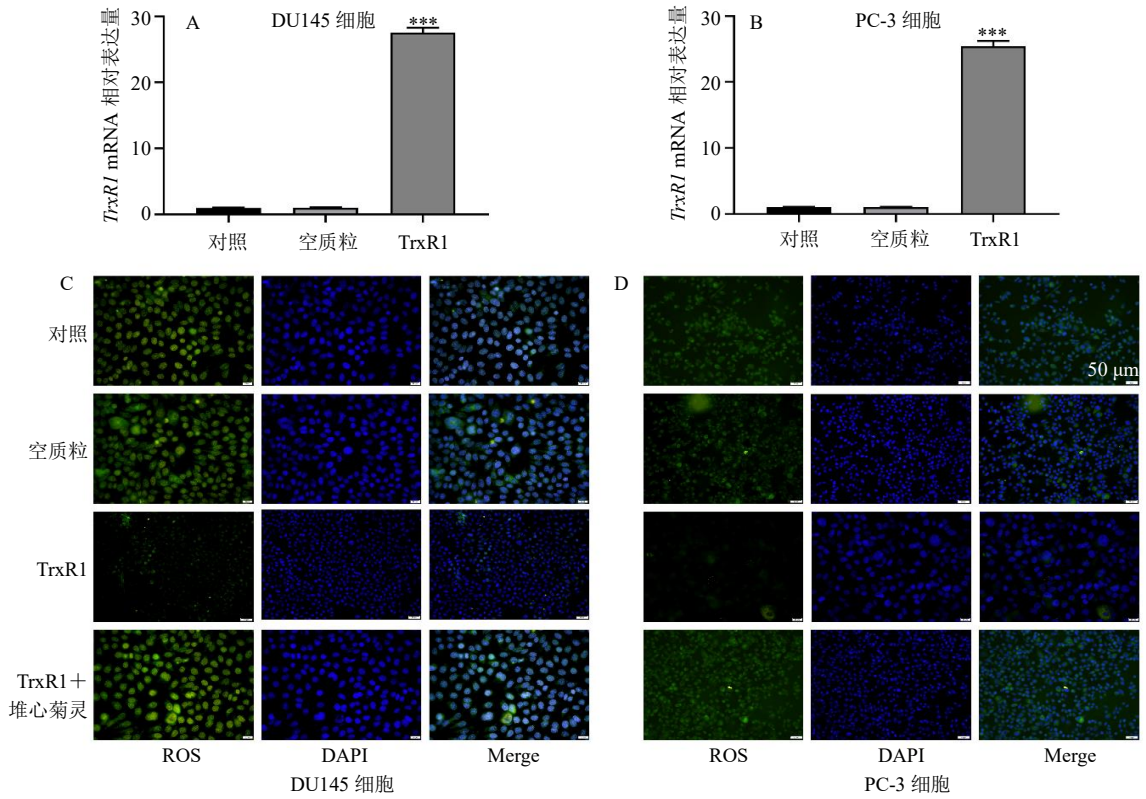
表明堆心菊灵通过靶向 TrxR1 促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生。

## 4　讨论

堆心菊灵在人类多种癌细胞中均表现出有效的抗癌效果，但其对前列腺癌的作用及机制尚不清楚。本研究考察了堆心菊灵在 DU145 和 PC-3 细胞 2 种前列腺癌细胞中的抗癌作用，发现堆心菊灵可以通过靶向 TrxR1 促进前列腺癌细胞 ROS 的产生，进而发挥抗癌作用，表明堆心菊灵可能是一种有前景的抗前列腺癌药物。

研究报道，MHY440 可以通过 ROS 依赖的 DNA 损伤，促进胃癌细胞的凋亡和细胞周期阻滞[10]；Brosimone I 可能通过 ROS 介导的内质网应激促进大肠癌细胞的凋亡和 $G_1$ 细胞周期阻滞[11]。本研究结果显示，堆心菊灵可以诱导前列腺癌细胞中 ROS 的产生。研究发现，堆心菊灵可以减轻急性肝损伤小鼠中 ROS 的产生[8]。ROS 可作为由堆心菊灵诱导的实体瘤细胞死亡的关键介质[12]。然而，经 ROS 抑制剂预处理后，堆心菊灵对前列腺癌细胞的抑制作用被减轻。因此，堆心菊灵是否通过诱导 ROS 的产生进而促进前列腺癌的凋亡和细胞周期阻滞，需要更多的研究来验证。

TrxR 是肿瘤的一个关键的治疗靶点[13]。TrxR1 与前列腺癌的发生和发展有关。与正常组织相比，TrxR1 在前列腺癌组织显著高表达。靶向 TrxR1 可以改善前列腺癌患者的预后[14]。本研究结果显示，堆心菊灵降低了 DU145 和 PC-3 细胞中 *TrxR1* 的表达，且呈剂量相关性。因此，TrxR1 可能是堆心菊灵的潜在靶点。研究报道，抑制 TrxR1 可以诱导 ROS 在胃癌细胞中的积累[15]。敲低 *TrxR1* 后，在 DU145 和 PC-3 细胞中发现了相似的结果；过表达 TrxR1 降低了 ROS 的产生。据报道，抑制 TrxR1 可以刺激乳腺癌[16]和肝细胞癌[17]的内质网应激依赖性的细胞凋亡。因此，堆心菊灵可以通过降低前列腺癌细胞中 TrxR1 的表达来促进 ROS 的产生，进而促进前列腺癌细胞凋亡。




qRT-PCR 法检测 DU145 (A) 和 PC-3 细胞 (B) 中 TrxR1 过表达的效果　经 TrxR1 过表达质粒或者堆心菊灵处理后，DCFH-DA 染色法检测 DU145 (C) 和 PC-3 细胞 (D) 中 ROS 的产生　与空质粒组比较：$^{***}P<0.001$

qRT-PCR was used to verify the effect of TrxR1 overexpression in DU145 (A) and PC-3 cells (B)　after treated with TrxR1 overexpression plasmid or helenalin, DCFH-DA staining was performed to detect the production of ROS in DU145 (C) and PC-3 cells (D)　$^{***}P < 0.001$ *vs* empty vector group

**图 6　堆心菊灵通过靶向 TrxR1 促进人前列腺癌细胞中 ROS 的产生 ( $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)**

**Fig. 6　Helenalin promotes ROS production in human prostate cancer cells by targeting TrxR1 ( $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)**

综上所述，堆心菊灵能够通过靶向 TrxR1 发挥抗前列腺癌作用，其作用机制可能与 ROS 介导的细胞凋亡和细胞周期阻滞有关。堆心菊灵可能是一种有前景的抗前列腺癌药物，值得更深入的研究。

**利益冲突**　所有作者均声明不存在利益冲突

**参考文献**

[1] 付振涛, 郭晓雷, 张思维, 等. 2015 年中国前列腺癌发病与死亡分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2020, 42(9): 718-722.

[2] 朱晖, 邓康俐. 雄激素剥夺疗法和免疫疗法在前列腺癌治疗中的研究进展 [J]. 肿瘤防治研究, 2019, 46(10): 867-872.

[3] 肖莉, 张倩雨, 马莹, 等. 氧化应激在肿瘤糖代谢中的作用研究 [J]. 肿瘤, 2018, 38(9): 901-906.

[4] Wang Y F, Zhang Y Q, Ru Z X, *et al*. A ROS-responsive polymeric prodrug nanosystem with self-amplified drug release for PSMA (-) prostate cancer specific therapy [J]. *J Nanobiotechnology*, 2019, 17(1): 91.

[5] Ryu S, Lim W, Bazer F W, *et al*. Chrysin induces death of prostate cancer cells by inducing ROS and ER stress [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(12): 3786-3797.

[6] Li K, Zheng Q S, Chen X Y, *et al*. Isobavachalcone induces ROS-mediated apoptosis via targeting thioredoxin reductase 1 in human prostate cancer PC-3 cells [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 1915828.

[7] Jakobs A, Steinmann S, Henrich S M, *et al*. Helenalin acetate, a natural sesquiterpene lactone with anti-inflammatory and anti-cancer activity, disrupts the cooperation of CCAAT box/enhancer-binding protein β (C/EBPβ) and co-activator p300 [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(50): 26098-26108.

[8] Li Y, Zeng Y M, Huang Q F, *et al*. Helenalin from *Centipeda minima* ameliorates acute hepatic injury by protecting mitochondria function, activating Nrf2 pathway and inhibiting NF-κB activation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 119: 109435.

[9] Kriplani P, Guarve K. Recent patents on anti-cancer potential of helenalin [J]. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2020, 15(2): 132-142.

[10] Jang J Y, Kang Y J, Sung B, *et al*. MHY440, a novel topoisomerase I inhibitor, induces cell cycle arrest and apoptosis via a ROS-dependent DNA damage signaling pathway in AGS human gastric cancer cells [J]. *Molecules*, 2018, 24(1): 96.

[11] Zhao Y L, Zhou Y, Wang M F. Brosimone I, an isoprenoid-substituted flavonoid, induces cell cycle G 1 phase arrest and apoptosis through ROS-dependent endoplasmic reticulum stress in HCT116 human colon cancer cells [J]. *Food Funct*, 2019, 10(5): 2729-2738.

[12] 张留伟, 陈麒先, 王静云. 活性氧响应型抗肿瘤前药研究进展 [J]. 化学学报, 2020, 78(7): 642-656.

[13] 吴逸飞, 刘宝刚. 硫氧还蛋白还原酶 2 在恶性肿瘤中的研究进展 [J]. 实用肿瘤学杂志, 2018, 32(2): 174-178.

[14] Singh S S, Li Y, Ford O H, *et al*. Thioredoxin reductase 1 expression and castration-recurrent growth of prostate cancer [J]. *Transl Oncol*, 2008, 1(3): 153-157.

[15] Zhang P C, Shi L Y, Zhang T T, *et al*. Piperlongumine potentiates the antitumor efficacy of oxaliplatin through ROS induction in gastric cancer cells [J]. *Cell Oncol* (Dordr), 2019, 42(6): 847-860.

[16] Yin C T, Dai X X, Huang X J, *et al*. Alantolactone promotes ER stress-mediated apoptosis by inhibition of TrxR1 in triple-negative breast cancer cell lines and in a mouse model [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(3): 2194-2206.

[17] 胡卫, 方肇勤, 梁超, 等. RNAi 研究 TrxR1 在肝癌细胞增殖中的作用及不同中医治法的调节 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(1): 192-194.

[责任编辑　李亚楠]